



*Sveriges lantbruksuniversitet*

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för kliniska vetenskaper

# Bovint respiratoriskt syncytialt virus och bovint coronavirus i mjölkbesättningar på Åland – prevalens och riskfaktorer för introduktion

Frans Grape Engström

*Uppsala*

2013

*Examensarbete inom veterinärprogrammet*

ISSN 1652-8697

*Examensarbete 2013:53*



Bovint respiratoriskt syncytialt virus och bovin coronavirus i  
mjölkbesättningar på Åland – prevalens och riskfaktorer för  
introduktion

Bovine respiratory syncytial virus and bovine coronavirus  
infections in dairy herds of the Åland Islands - prevalence  
and risk factors for introduction

Frans Grape Engström

*Handledare: Stefan Alenius, Institutionen för Kliniska vetenskaper*

*Biträdande handledare: Anna Ohlson, Växa Sverige*

*Examinator: Nils Fall, Institutionen för Kliniska vetenskaper*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2012*

*Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap*

*Institutionen för Kliniska vetenskaper*

*Kurskod: EX0736, Nivå A2E, 30hp*

*Nyckelord: Bovint respiratoriskt syncytialt virus, bovin coronavirus, mjölkbesättningar, Åland, prevalens, smittskydd*

*Key words: Bovine respiratory syncytial virus, bovine coronavirus, dairy herds, prevalence, the Åland Islands, biosecurity*

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>*

*ISSN 1652-8697*

*Examensarbete 2013:53*



## Sammanfattning

Bovint respiratoriskt syncytialt virus (BRSV) och bovin coronavirus (BCV) är två vanligt förekommande infektioner i nötkreatursbesättningar världen över. BRSV och BCV kan orsaka luftvägssjukdom hos kalvar och vuxna nötkreatur, och BCV kan även orsaka diarré. Frihet från infektionerna har i studier satts i samband med ekonomiska vinster för lantbrukare då antikroppsnegativa besättningar visat sig ha lägre tankcelltal och att besättningar nyligen infekterade med BRSV kan ha minskad mjölkavkastning under lång tid. Man har även i en studie visat att det är möjligt för en region att hålla sig fri från BRSV under en längre tidsperiod.

Förekomsten av BRSV och BCV har tidigare inte studerats i åländska besättningar och studiens syfte var att undersöka antikroppsprevalensen av BRSV och BCV i åländska mjölkbesättningar samt att undersöka riskfaktorer för introduktion av smittorna från Sverige och finska fastlandet till Åland. Tankmjölk samlades in från 97%, 96% och 98% av de åländska mjölkbesättningarna 2008, 2010 respektive 2012 och analyserades avseende förekomst av antikroppar mot BRSV och BCV. För att studera riskfaktorer skickades enkäter ut till samtliga åländska mjölkbesättningar hösten 2012.

Resultaten visade att 2008 och 2010 var inga av de provtagna besättningarna antikroppspositiva mot BRSV ( $PP \geq 30$ ) och 19% respektive 24% var antikroppspositiva mot BCV ( $PP \geq 30$ ). Vid den sista provtagningen 2012 var 71% antikroppspositiva mot BRSV och 50% mot BCV. Svarefrekvensen på enkätstudien var 88%. En av trettioåtta besättningar använde alltid gårdsegna skyddskläder till besökare, 33 av 38 tillät djurtransportörer gå in i stallet och 2 av 17 lantbrukare isolerade inköpta djur i karantän (17 angav att de ej köper in djur). Enkäten visade även att 31 av 38 åländska lantbrukare anlitat personal från Sverige eller finska fastlandet och att klövverkare var den vanligaste anlitade personalkategorin (29 av 38 lantbrukare). Djurinköp under de sista två åren hade gjorts i 13 av 38 besättningar, varav 11 från åländska besättningar, 3 från finska besättningar och ett från Sverige.

Den longitudinella prevalensstudien visade att BRSV introducerats till Åland mellan 2010 och 2012 och att spridningen mellan åländska mjölkbesättningar var stor. BCV har tidigare förekommit på Åland, men förekomsten har ökat sedan 2008. Studier visar att BRSV och BCV nyintroduceras mellan olika utbrott i tid och rum vilket innebär att dessa virus troligen förts in från smittkälla utanför Åland. Enkätstudien visade på flera möjliga smittvägar från Sverige och finska fastlandet där personal och djurinköp var de mest sannolika.

Det finns utrymme för förbättring av smittskyddet i åländska mjölkbesättningar. Förslag till förbättrade rutiner är att använda gårdsegna skyddskläder till besökare, att inte låta transportörer gå in bland de egna djuren och att minimera antalet inköpta djur och vid inköp kontrollera smittstatus på den säljande besättningen samt isolera djuren i karantän.



## Summary

Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and bovine coronavirus (BCV) are common causes of infection in cattle herds all over the world. BRSV and BCV can cause respiratory disease in bovine calves and adults, and BCV can also cause diarrhea. These infections are associated with costs for the farmer, use of antibiotic treatment and negative impact on herd health. Recent studies have shown that antibody negative herds have lower bulk tank somatic cell count compared to antibody positive herds and that these infections are associated with a decrease in milk yield that can last for several months. It has also been showed that it is possible for a region to stay free from BRSV for a long period of time.

The prevalence of BRSV and BCV in cattle herds on the Aland Islands has not previously been investigated, and the purpose of this study was to investigate the prevalence of BRSV and BCV in dairy herds on the Aland Islands, as well as to investigate risk factors for introduction of BRSV and BCV from Sweden and the Finnish mainland.

Bulk tank milk was collected in 2008, 2010 and 2012 from 97%, 96% and 98% of the dairy herds on the Aland Islands respectively, and analyzed for the presence of antibodies against BRSV and BCV. To identify eventual risk factors associated with antibody positive herds, questionnaires were sent to all dairy farms on the Aland Islands in the autumn of 2012.

The results showed that in 2008 and 2010, none of the dairy herds were antibody positive ( $PP \geq 30$ ) towards BRSV. Regarding BCV, 19% and 24% were antibody positive ( $PP \geq 30$ ) 2008 and 2010 respectively. In the last sample 2012, 71% were positive to BRSV, and 50% to BCV. The response rate for the questionnaire was 88%. One out of 38 herds always provided farm specific clothing for herd visitors, 33 out of 38 allowed personnel from animal transports to enter the herd, and 2 out of 17 farmers isolated new animals in quarantine (17 did not purchase animals). The questionnaire also showed that 31 out of 38 herds had hired staff from Sweden or the Finnish mainland, of which claw trimmers was the most common (29 out of 31). Thirteen out of 38 herds had bought in animals during the last two years, of which eleven originated from Åland, three from the Finnish mainland and one from Sweden.

The longitudinal prevalence study showed that BRSV was introduced to the Aland Islands between 2010 and 2012 and that it has since spread extensively among the dairy herds. There were antibody positive herds at all three sampling occasions with an increase between 2010 and 2012. Previous studies have shown that BRSV and BCV are reintroduced between outbreaks, and it is therefore likely that the infections have been introduced to the Aland Islands from Sweden or the Finnish mainland. The questionnaire identified several possible ways for the introduction, of which hired staff and animal purchases were the most likely.

The questionnaire also showed that biosecurity routines among the dairy herds on the Aland Islands can be largely improved. Suggestions of improvement includes herd specific protective clothing for visitors, not allowing personnel from animal transports to enter the herds, and minimize the introduction of new animals and if animals are to be introduced, analyze disease status of the selling herd and apply quarantine routines.





## INNEHÅLL

Inledning.....	1
Bakgrund .....	1
Nötbesättningar på Åland .....	1
Kort bakgrund om agens.....	2
Bovint respiratoriskt syncytialt virus .....	2
Bovint coronavirus.....	3
BRSV och BCV epidemiologi.....	4
Förekomst .....	4
Smittspridning.....	5
Molekylärepidemiologiska studier.....	5
Riskfaktorer.....	6
Ekonomiska effekter.....	6
Antikroppar mot BRSV och BCV i mjölk.....	7
Material och metoder .....	7
Provtagning.....	7
Analyser.....	7
Enkät.....	7
Statistiska beräkningar.....	8
Resultat.....	8
Antikroppsprevalens i tankmjölk.....	8
Geografisk fördelning.....	9
Enkät svar .....	10
Besättningskaraktäristika .....	11
Symtom på BRSV och BCV .....	12
Smittskyddsrutiner .....	13
Kontakter med åländska besättningar .....	13
Kontakter med Sverige och finska fastlandet .....	14
Diskussion .....	14
Tack till .....	17
Referenslista .....	17



## Inledning

Bovint respiratoriskt syncytialt virus (BRSV) och bovin coronavirus (BCV) är två vanligt förekommande infektioner i nötkreatursbesättningar världen över (Boileau and Kapil, 2010; Valarcher och Taylor, 2007). BRSV kan orsaka respiratoriska symtom hos kalvar och vuxna nötkreatur (Valarcher och Taylor, 2007). Bovint coronavirus kan ge diarré hos kalvar, vinterdysenteri hos vuxna nötkreatur och varierande grad av respiratorisk sjukdom hos djur i alla ålderskategorier (Boileau och Kapil, 2010; Tråvén *et al.*, 2001). Infektioner med BRSV och BCV kan predisponera för sekundära bakteriella pneumonier som kräver antibiotikabehandling (Elvander, 1996; Saif, 2010). Dessa infektioner är ett problem för djurvälståndet och har negativa ekonomiska konsekvenser för djurägaren (Beaudeau *et al.*, 2010b; Elvander, 1996; Tråvén *et al.*, 2001).

I Sverige är infektionerna vanligt förekommande och tankmjölkstudier har visat på en hög prevalens av antikroppar mot BRSV och BCV i mjölkbesättningar med stora regionala skillnader (Elvander, 1996; Tråvén *et al.*, 1999). Studier i Finland och Norge visar liknande resultat som i Sverige avseende prevalens av BRSV och BCV (Gulliksen *et al.*, 2009; Härtel *et al.*, 2004). Ohlson *et al.* (in press) visar dock i en treårig studie att ett område kan hålla sig fritt från BRSV en längre period.

Åländska mjölkbesättningar är en intressant population att studera avseende BRSV och BCV i egenskap av att Åland består av öar och med dess geografiska läge mellan Sverige och Finland. Prevalensen av antikroppar mot BRSV och BCV bland mjölkbesättningar på Åland har ej tidigare undersökts. Syftet med detta examensarbete är därför att kartlägga smittläget av BRSV och BCV på Åland genom upprepade tankmjölksscreeningar. Arbetet inkluderar också att utvärdera smittskyddsrutiner i åländska besättningar samt utvärdera eventuella associationer mellan besättningsfaktorer och antikropsstatus.

## Bakgrund

### Nötkreatur på Åland

Mjölkssektorn på Åland följer samma trend som i Sverige med en minskning av antalet besättningar men en ökning av besättningsstorlek samt avkastning (Arola, 2011). År 2000 fanns 2260 mjölkkor fördelade i 128 besättningar och 2011 var antalet reducerat till 1764 mjölkkor i 48 besättningar. 2011 fanns 66 köttbesättningar och totalt 7546 nötkreatur på Åland (ÅSUB, 2012). År 2010 var medelstorlek för mjölkbesättningar 35 kor per besättning, vilket är en ökning med 8 kor per besättning sedan 2006. En femtedel av besättningarna var lösdriftsbesättningar och resterande uppbundna, och fördelningen av mjölkningssystem var 73% rörmjölkning, 13% mjölkgrup, 9% robotmjölkning och 4% spannmjölkning (Arola, 2011).

Semin sköts av Ålands Hushållningssällskap, 2010 inseminerade 16% av mjölkproducenterna själva. Klövverkare anlitas privat eller genom Ålands Hushållningssällskap, som i sin tur anlitar klövverkare från Sverige. Mjölken levereras till Ålands Centralandelslag med mejeri i Prästgårdenby, Jomala där huvuddelen av mjölken går till produktion av ost (Arola, 2011). I statistik som sträcker sig från 1993 till 2011 klassas mjölk som den ekonomiskt viktigaste av de åländska jordbruksprodukterna (ÅSUB, 2012).

Merparten av mjölkbesättningarna är belägna på huvudön, och av skärgårdskommunerna finns det mjölkkor på Sottunga, Vårdö, Kökar och Föglö. Den som importerar djur från Sverige eller annat EU-land skall registrera detta skriftligt 10 dagar innan införseln. Beroende av rådande hälsoläget i exportlandet måste djuret kontrolleras avseende vissa sjukdomar om exportlandet ej klassas som officiellt fria. I den skriftliga anmälan skall det ingå en utredning om att importören har tillgång till utrymme där det importerade djuret kan stå i karantän. Det finns inga officiella krav på karantän om djuret kommer från Sverige, men finska djurhälsoföreningar rekommenderar ändå karantän vid införsel av nötkreatur från Sverige. Djuret skall även åtföljas av ett hälsointyg. Inga regleringar finns vid handel med nötkreatur från finska fastlandet.

Bovin virusdiarré (BVD) är ovanligt i Finland och 2009 upphörde det frivilliga övervakningshälsoprogrammet. Övervakningen av BVD övergick då till årliga provtagningar av mjölk från alla mjölkbesättningar samt provtagning i besättningar där symtom observerats. I köttbesättningar görs slakteriprovtagning för BVD. Vid påvisande av BVD spärras gården och virusutsöndrare identifieras och avlägsnas. Antikroppar mot Schmallerbergvirus påträffades under september 2012 på Åland och senare även på finska fastlandet (EVIRA, 2012). Under samma tidsperiod kunde antikroppar mot Schmallerbergvirus konstateras vara vanligt förekommande i svenska besättningar (SJV, 2012). Finland är officiellt fria från bovin leukos. Senaste fallet av infektiös bovin rhinotracheit inträffade i Finland 1994 och sedan dess övervakas sjukdomen årligen (EVIRA, 2012).

## **Kort bakgrund om agens**

### ***Bovint respiratoriskt syncytialt virus***

BRSV är ett hölje-försett RNA-virus tillhörande familjen *Paramyxoviridae* och en viktig orsak till luftvägssjukdom hos kalvar världen över. BRSV är värdspecifikt och nära besläktat med humant respiratoriskt syncytialt virus (HRSV) som orsakar luftvägssjukdom hos spädbarn. Viruset är mycket labilt i miljön och inaktiveras genom lågt pH och fettlösliga medel (Larsen, 2000).

### ***Kliniska symptom***

Inkubationstiden för BRSV är vanligen två till fem dagar. Milda symtom inkluderar hosta, seröst näsflöde, lindrigt ökad andningsfrekvens och onormala andningsljud. Måttliga symtom som kan ses är tachypné, kraftiga andningsljud och kraftig hosta. De allvarligast drabbade kan uppvisa dyspné och subkutana emfysem. Generella symtom sträcker sig från feber och nedsatt allmäntillstånd till dödsfall i akut lunginflammation (Brodersen, 2010; Larsen, 2000; Valarcher och Taylor, 2007).

Efter en genomgången infektion får djuret immunitet och cirkulerande antikroppar ger mildare symtom vid reinfektion. Detta tros vara orsaken till att vuxna individer i regel utvecklar sjukdom endast i besättningar som varit fria från infektionen en längre period. (Valarcher och Taylor, 2007). BRSV kan orsaka sjukdom ensamt, men ingår också i sjukdomskomplexet enzootisk pneumoni tillsammans med BCV, parainfluenta-3, *Pasturella multocida* och *Mannheimia hemolytica*.

### *Diagnos och behandling*

I det akuta skedet kan nässvabbsprov tas för att påvisa BRSV-RNA genom PCR. Antikroppar påvisas vanligen med ett ELISA-test och en eventuell titerstegring kan ses i serumparprov med ett prov i det akuta skedet och ett prov två veckor senare (Elvander *et al.*, 1995; West *et al.*, 1998). Behandlingen är huvudsakligen symtomatisk med febernedsättande och antiinflammatorisk medicin i kombination med eventuell vätsketerapi. I de fall sekundära bakteriella infektioner tillstöter är antibiotikabehandling ofta nödvändigt, i första hand med penicillin (Larsen, 2000; SVS, 2011).

### *Profylax*

Det finns i dagsläget ett vaccin mot BRSV tillgängligt i Sverige (Bovilis Bovipast Vet). Det är ett avdödat kombinationsvaccin som riktar sig mot parainfluenza-3 virus, BRSV och *Mannheimia haemolytica* (FASS, 2012). Effekten av vaccinet är dock (Larsen och Graumann, 2010).

### **Bovint coronavirus**

#### *Etiologi*

Bovint coronavirus är höljeförsett RNA-virus tillhörande familjen *Coronaviridae*. BCV är värdspecifikt, men i familjen ingår t.ex. hundens och människans coronavirus. Liksom BRSV är BCV ett labilt virus med kort överlevnad utanför värdjuret och inaktiveras lätt genom handtvätt med tvål och av vanliga desinfektionsmedel. BCV sprids direkt och indirekt via avföring samt även via luftvägssekret (Saif, 2010).

#### *Patogenes och kliniska symptom*

BCV replikerar i luftvägs- och tarmepitel och kan ensamt orsaka både diarré och/eller luftvägssjukdom. I tarmen leder infektion till förstörelse av tarmludd i tunntarmen och tjocktarmen, vilket orsakar en malabsorptiv diarré (Saif, 2010). Bidokhti *et al.* (2012a) liksom Tråvén *et al.* (2001) visade att det var ett och samma virus som orsakar diarré och luftvägsymtom.

Diarré orsakat av BCV ses i både kött- och mjölkbesättningar. Sjukdomsgraden beror av ålder, immunstatus, infektionsdos, virulens och miljö. De allvarligaste drabbade är oftast de yngsta djuren med bristande passiv immunitet. Diarrén har ofta en mukohemorragisk karaktär (Boileau och Kapil, 2010). Tråvén *et al.* (2001) kunde i sin studie detektera virus i avföringen hos kalvar och vuxna djur i tre till sex dagar respektive två till fyra dagar efter inokulation.

När BCV drabbar besättningar i epizootiliknande utbrott kallas det vinterdysenteri. Varierande grader av anorexi och nedsatt allmäntillstånd kan ses och ibland föregås diarrén av en lindrig till måttlig feber. Mjolkproduktionen kan sjunka, men stiger ofta till normal nivå efter besättningsutbrottet klingat av, ca 2-3 veckor efter första sjukdomsfallet (Boileau och Kapil, 2010).

Luftvägssjukdom kan orsakas av BCV ensamt, men BCV ingår också i sjukdomskomplexet enzootisk pneumoni tillsammans med parainfluenza-3, BRSV och bakterier såsom *Pasturella multocida* och *Mannheimia hemolytica*. BCV som ensamt agens orsakar oftast lindriga luft-

vägssymtom såsom hosta, ökad andningsfrekvens, näsflöde och feber, men rapporter finns om allvarliga sjukdomsutbrott där BCV ensamt kunnat kopplas till lunginflammation och dödsfall. I många fall förekommer luftvägssymtom tillsammans med diarré (Saif, 2010).

#### *Diagnos och behandling*

BCV kan diagnosticeras genom påvisande av nukleinsyra genom PCR-analys på träckprover tagna i det akuta skedet. Liksom BRSV kan antikroppar påvisas i serum med ett ELISA-test, och serumparprov tas med ett prov i det akuta skedet och påföljande prov 14 dagar senare för att påvisa titerstegring. Vid luftvägssymtom kan PCR även användas för att detektera RNA i luftvägsssekret i det akuta skedet (Saif, 2010).

Drabbade individer spontanavläker i regel inom 2 till 3 dagar och besättningsutbrottet avklingar vanligen inom 1 till 3 veckor. Ingen specifik antiviral behandling finns, men individer kan i samband med långdragen eller kraftig diarré tappa mycket vätska och elektrolyter, och oral eller intravenös vätsketerapi kan behöva sättas in. Vid luftvägssymptom kan antibiotika vara indicerat då sekundära bakteriella pneumonier misstänks. Vid fall av kraftig blodförlust kan blodtransfusion vara aktuellt (Boileau och Kapil, 2010).

### **BRSV och BCV epidemiologi**

#### ***Förekomst***

BRSV och BCV är vanligt förekommande över hela världen, vanligen med en endemisk spridning. I en tankmjölksundersökning i England och Wales var prevalensen av antikroppar mot BRSV och BCV 100% (Paton *et al.*, 1998). Liknande studier i Sverige har visat att prevalensen är högre i södra och mellersta Sverige jämfört med norra Sverige. Detta kan bero på att djurtätheten är högre i södra Sverige vilket kan innebära fler kontakter mellan besättningar (Elvander, 1996; Ohlson *et al.*, 2010b; Tråvén *et al.*, 1999). Risken att vara antikroppspositiv är högre i större besättningar jämfört med mindre, vilket också kan vara en effekt av att kontakter med andra besättningar ökar i större besättningar (Ohlson *et al.*, 2010b; Tråvén *et al.*, 1999). Beaudeau *et al.* (2010a) visade i en studie liknande resultat i köttbesättningar avseende korrelation mellan antikroppsstatus för BRSV och BCV, och region.

Härtel *et al.* (2004) gjorde en studie inkluderande 18 finska besättningar med luftvägssjukdom varav åtta var mjölkbesättningar. Man fann antikroppar mot BRSV och BCV i 67% respektive 89% av besättningarna. I en norsk studie av Gulliksen *et al.* (2009) med 135 slumpmässigt utvalda norska besättningar fann man en antikroppsprevalens av BRSV och BCV på besättningsnivå på 71% respektive 81%.

En treårig svensk studie av Ohlson *et al.* (in press) visade att prevalensen för antikroppar mot BRSV minskade i Jämtland under studieperioden och att området var fritt från BRSV i slutet av studien. Detta tyder på att det är möjligt att bli fri från infektion trots dess vanliga förekomst. De besättningar som var antikroppsnegativa mot BRSV och BCV genom hela studien var lokaliserade fr.a. i Jämtland och Västerbotten, två områden som jämfört med de sydligare regionerna har en mindre besättningsstorlek och ett mindre antal gårdar per kvadratkilometer. Minskningen i prevalens avseende BCV följde inte samma mönster i vare sig Jämtland eller

Västerbotten, vilket indikerar att det kan finnas ytterligare en faktor som spelar in i smittspridningen.

### **Smittspridning**

BRSV och BCV smittar båda via direktkontakt men även indirekt via t.ex. redskap och kläder. Experimentella studier har även påvisat aerosolsmitta för BRSV, dock vid mycket korta avstånd (Mars *et al.*, 1999; Otto *et al.*, 1996). I en studie av Ohlson *et al.* (2010b) fann man att antikroppspositiva gårdar inte bildade kluster jämfört med antikroppsnegativa gårdar och positiva gårdar sågs ligga nära negativa, vilket tolkades som att smittspridning via luft inte sker över några längre avstånd. I samma studie fanns dock nära avstånd till närmaste nötkreatursbesättning utan känd antikroppsstatus vara förknippat med ökad risk för att vara antikroppspositiv för BCV. Att resultatet var signifikant för BCV kan förklaras genom att spridning av BCV främst sker via avföring vilket innebär en annan smittspridning. Liknande resultat sågs i en studie av Hägglund *et al.* (2006). I denna studie visade man även att besättningar med positiva utslag på tankmjölk avseende antikroppar mot BRSV och BCV hade unga djur som ej serokonverterade under ett års tid. Detta visar indirekt på att smittan ej cirkulerar inom besättningarna under året.

Utbrott av BRSV och BCV är vanligast på vinterhalvåret då djuren är installade. Anledningar till detta kan vara att virus överlever längre vid lägre temperatur och minskat UV-ljus och att temperaturförändringar och stress kan leda till sämre motståndskraft hos djuren (Saif, 2010; Valarcher och Taylor, 2007). Både BCV och BRSV har visats cirkulera även under sommarhalvåret, dock till en lägre grad, och kan även ge upphov till klinisk sjukdom under denna period (Bidokhti *et al.*, 2012a, Bidokhti *et al.*, 2012b). Hypotesen att BRSV kan ligga latent hos djur och reaktiveras och återutsöndras vid t.ex. stress testades i en studie genom att behandla antikroppspositiva djur med kortison. En titerstegring kunde ses hos vissa djur, men virus kunde ej påvisas och kliniska symtom kunde ej ses (van der Poel, 1995).

### **Molekylärepidemiologiska studier**

Larsen *et al.* (2000) påvisade i en dansk studie identiska BRSV-isolat under samma besättningsutbrott och skillnader i upp till 11% mellan isolat påvisade i samma besättning men från olika utbrott. Författarna menar att resultatet tyder på att BRSV återintroducerats till besättningen innan sjukdomsutbrott och gör gällande att det är mindre sannolikt att det rör sig om latens eller recirkulation som gett upphov till nya stammar av BRSV.

Bidokhti *et al.* (2012b) visade i en studie där de använde sig av molekylär epidemiologi att svenska BRSV-isolat provtagna i utbrott mellan 2007 och 2011 uppvisade stor likhet och har sannolikt cirkulerat i den relativt slutna nötkreaturspopulationen i Sverige de senaste åren. I samma studie sekvenserades BRSV-isolat från olika besättningar under en period av några månader och de fann identiska virus. Detta innebär att det sannolikt var fråga om smitta mellan besättningarna.

Liu *et al.* (2006) kunde i en molekylärepidemiologisk studie påvisa identiska BCV-isolat i olika besättningar under en kortare tidsperiod i samband med en kedja av utbrott orsakade av BCV. De visade även på skillnader mellan isolat som påvisats olika år i samma besättning. Detta tyder på att BCV smittar mellan besättningar och att det inte rör sig om latens eller

cirkulation inom besättningen. De kunde även påvisa identiska isolat hos olika djur i samma besättning under ett och samma utbrott, vilket tyder på att en serotyp är orsaken till ett specifikt utbrott i en besättning.

Bidokhti *et al.* (2012) visade att BCV kan cirkulera och orsaka sjukdomsutbrott även under sommarhalvåret. Stammar som orsakade utbrott av vinterdysenteri i norra Sverige uppvisade stor likhet och indikerar att utbrott sannolikt uppstår till följd av introduktion av smitta från andra besättningar.

### **Risikfaktorer**

Besättningar som inseminerar själva har i flera studier visat sig ha högre prevalens jämfört med de som använder extern seminpersonal (Bidokhti *et al.*, 2009; Ohlson *et al.*, 2010b). Att ha frekventa besökare som kommer i kontakt med djur från flera besättningar under samma dag bör ej ha en skyddande effekt, utan speglar troligen något annat i besättningskaraktäristika. Resultatet visar dock att det går att skydda sig från introduktion av smitta trots frekventa besök.

Ohlson *et al.* (2010b) visade att besättningar som alltid använder sig av gårdsegna stövlar till besökare har en lägre risk att vara antikroppspositiv mot BRSV och BCV. Att alltid låta besökare använda gårdsegna stövlar speglar sannolikt en hög smittskyddsnivå. Bidokhti *et al.* (2009) visade att prevalensen av antikroppar var högre i konventionella besättningar jämfört med ekologiska, något som även det kan spegla en högre grad av smittskydd. KRAV-besättningar har kontrollerade djurinköp och då medicinska behandlingar i en kravbesättning innebär dubbel karenstid ökar eventuellt besättningens motivation till smittskydd.

Studier har visat att det finns en positiv association mellan att vara antikroppspositiv mot BRSV och antikroppspositiv mot BCV. Detta tyder på att de två infektionerna uppvisar en liknande epidemiologi (Beaudeau *et al.*, 2010a; Ohlson *et al.*, 2010b), men visar också att besättningar med bra smittskyddsrutiner sannolikt undviker flera smittor.

### **Ekonomiska effekter**

Få studier har gjorts för att utvärdera de ekonomiska effekter infektionerna har på mjölkbesättningar. Förhållandesättet gentemot infektionerna varierar bland både veterinärer och farmare, och bland vissa veterinärer finns en attityd att kontinuerlig smitta minskar effekterna av infektion. Ohlson *et al.* (2010a) visade att besättningar som var antikroppsnegativa för både BRSV och BCV hade lägre celltal i tankmjölken jämfört med antikroppspositiva (163 000 jämfört med 218 000 celler/ml), vilket kan innebära bättre ekonomi för mjölkproducenten. Intressant var också att det fanns en tendens, även om resultaten ej var signifikanta, mot bättre resultat avseende mjölkproduktionen, kalvningsintervall, kalving-inseminationsintervall, antal inseminationer, kalvdödlighet 0-24 h, utslagningsfrekvens och juverhälsoklass i antikroppsnegativa besättningar jämfört med antikroppspositiva.

Studier har även visat att besättningar som nyligen haft utbrott med BRSV har minskad avkastning med i genomsnitt 0,9 liter per ko och dag mätt under 7 månader efter utbrottet (Beaudeau *et al.*, 2010b). Detta var betydligt mer än vad en studie visade i samband med BRSV-utbrott i norska mjölkbesättningar där produktionsfallet endast varade en vecka och



beräknades till 0,7 liter lägre per dag och ko jämfört med nivån innan utbrott (Norström *et al.*, 2001). BCV:s effekt på mjölkproduktionen kunde i studien av Beaudeau *et al.* (2010b) ej bekräftas. Tråvén *et al.* (2001) visade dock vid experimentellt framkallad vinterdysenteri att mjölkproduktionen sjönk dramatiskt hos vuxna seronegativa djur, med en lägsta nivå på 19-56% av produktionen innan sjukdomsutbrott. Nivån normaliserades först efter 14 dagar. Då låg nivån ca 5% under produktionen innan sjukdomsutbrottet.

## Antikroppar mot BRSV och BCV i mjölk

Individer som infekteras med BRSV eller BCV serokonverterar och får kraftigt förhöjda antikropps nivåer i serum. Antikroppar mot infektionerna kvarstår lång tid (Bidokhti *et al.*, 2009; Tråvén *et al.*, 2001). Individuella, poolade och tankmjölksprover kan analyseras avseende antikroppar mot BCV och BRSV. Poolade prover från förstakalvare visar på om besättningen haft smittan de senaste 2-3 åren medans tankmjölksprover speglar långtidshistoriken. I områden där infektionerna är ovanliga kan man använda sig av tankmjölksprover för att övervaka besättningarnas status. I områden där infektionerna är vanliga är poolade mjölkprover från förstakalvare ett bättre alternativ (Ohlson *et al.*, in press).

## Material och metoder

### Provtagning

Tankmjölksprover från alla mjölkbesättningar på Åland samlades in av Ålands Hushållnings-sällskap 2008, 2010 och 2012. Proverna togs i 10 ml provrör med 1,5 mg tillsats av konserveringsmedlet Bronopol och förvarades i -20°C till dess analys utfördes.

### Analys

Tankmjölken analyserades avseende förekomst och kvantitet av immunoglobulin G mot BRSV och BCV med indirekta ELISA-tester (Svanovir® BRSV-Ab och Svanovir® BCV-Ab, Svanova) på Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA). Den optiska densiteten (OD) i mjölken mättes vid 450 nm och resultatet korrigerades genom att subtrahera med negativ kontroll OD. För att korrigera för eventuell dag-till-dag variation beräknades procent positivitet (PP) enligt följande:

$$PP = \frac{\text{Korrigerad OD}}{\text{Korrigerad positiv kontroll OD}} \times 100$$

Två gränser för positivt resultat användes:  $PP \geq 10$  enligt rekommendation från tillverkare för individuella prover och  $PP \geq 30$  enligt rekommendation av Ohlson *et al.* (in press). Sensitivitet och specificitet för Svanovir® BRSV-Ab är enligt tillverkaren 94,6% respektive 100%. Motsvarande värden för Svanovir® BCV-Ab är 84,6% och 100%. Testerna är utvecklade för serum och mjölk.

### Enkät

För att analysera möjliga riskfaktorer för introduktion av BRSV och BCV till åländska besättningar utformades enkäter som gick ut till samtliga åländska besättningar. I enkäten ingick frågor om lantbrukarna observerat några kliniska symptom relaterade till BRSV och/eller

BCV (vilka symptom, i vilken grad och vilka djurkategorier som drabbats) och frågor om smittskyddsrutiner på gården (inköp av djur, rutiner vid besök, eventuella kontakter med Sverige och finska fastlandet). Enkäten kan fås från författaren vid förfrågan.

## Statistiska beräkningar

För att undersöka om det förelåg (1) samband mellan geografiskt läge (huvudö/skärgårdsö) och antikroppsstatus samt (2) associationer mellan antikroppsstatus mot BRSV och antikroppsstatus mot BCV utfördes analyser med både  $PP \geq 10$  och  $PP \geq 30$  som gränsvärde för positivt prov. Eventuella associationer mellan enkätsvar och antikroppsstatus analyserades med  $PP \geq 30$  som gränsvärde för positivt prov. I de fall svaret var av kontinuerlig karaktär grupperades svaren enligt biologisk relevans. Alla statistiska analyser utfördes med Fischer's exact test i statistikprogrammet Stata (Stata statistical software: Release 12.0: Collage Station. TX. USA: StataCorp LP.). Besättningarnas geografiska läge åskådliggjordes med kartprogrammet ArcGIS (ArcGIS for Desktop Basic version 10.1: ESRI Inc., Redlands, California, USA).

## Resultat

### Antikroppsprevalens i tankmjölk

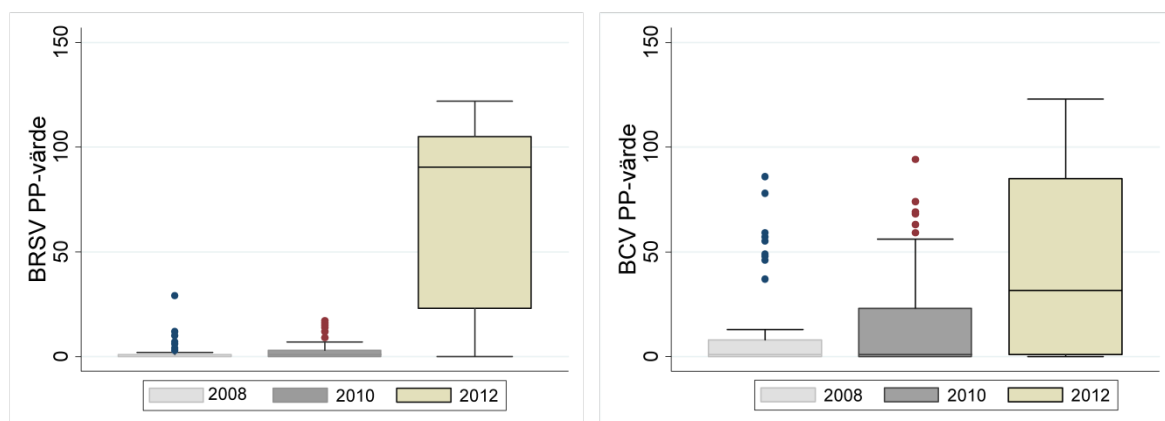
Tankmjölksprover från 57, 51, och 42 av Åländska mjölkbesättningar samlades in mars 2008, mars 2010 och augusti 2012. Detta motsvarar 97%, 96% och 98% av det totala antalet besättningar på Åland för respektive år. Antikroppsprevalensen för BRSV och BCV för respektive provtagningsomgång redovisas i tabell 1.

*Tabell 1. Antal antikroppspositiva mjölkbesättningar på Åland avseende bovint respiratoriskt syncytialt virus (BRSV) och bovint coronavirus (BCV) vid två olika gränsvärden (uttryckt i procent positivitet (PP)) för positiva prover*

År	Antal provtagna/antal besättningar totalt	BRSV		BCV	
		$PP \geq 10$	$PP \geq 30$	$PP \geq 10$	$PP \geq 30$
2008	57/59	3 (5%)	0 (0%)	13 (23%)	11 (19%)
2010	51/53	6 (12%)	0 (0%)	16 (31%)	12 (24%)
2012	42/43	34 (81%)	30 (71%)	24 (57%)	21 (50%)

Det fanns inget signifikant samband ( $p > 0,05$ ) mellan att vara antikroppspositiv mot BRSV och BCV vid ett cut off på  $PP \geq 10$  eller  $PP \geq 30$ . Antikroppsnivåerna för varje provtagningsomgång visas i figur 1.

Figur 1. Boxplot över värden för procent positivitet (PP) för bovin respiratoriskt syncytialt virus (BRSV) och bovin coronavirus (BCV) baserat på tankmjölksprover under 2008, 2010 och 2012. PP-värde ses på y-axeln och årtalen på x-axeln.



## Geografisk fördelning

Prevalensen av BRSV och BCV i skärgårdskommunerna 2012 var numeriskt lägre än på huvudön, men skillnaden vid ett cut off för positiva prover på  $PP \geq 10$  var inte statistiskt signifikant. Vid det högre gränsvärdet för positiva besättningar,  $PP > 30$ , var dock skillnaden signifikant ( $p=0,014$ ) för BRSV. Tabell 2 visar antikroppsprevalensen för BRSV och BCV vid cut off  $PP \geq 30$  fördelat på skärgårdskommuner och på huvudön.

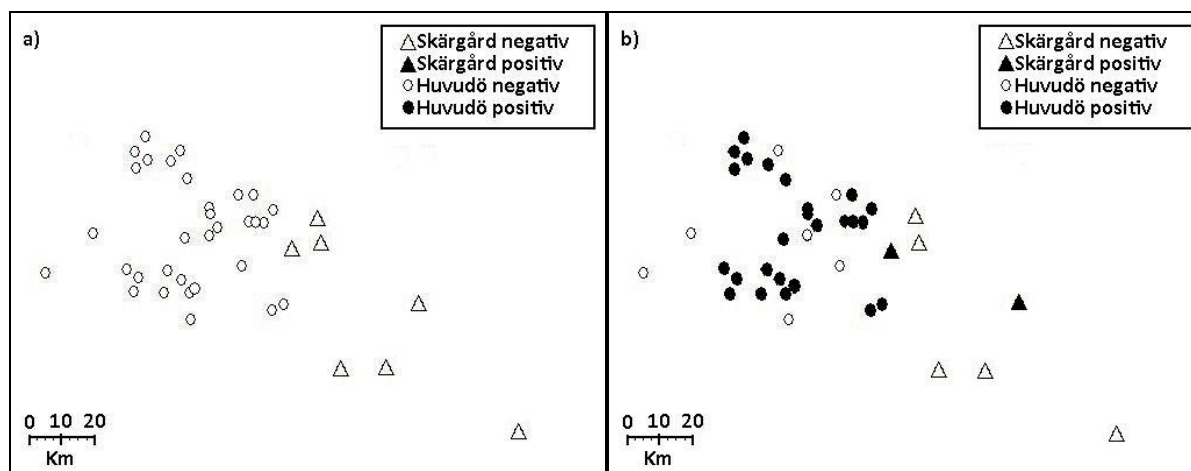
Tabell 2. Antal antikroppspositiva mjölkbesättningar belägna på åländska huvudön och i åländska skärgårdskommuner avseende bovin respiratoriskt syncytialt virus (BRSV) och bovin coronavirus (BCV), vid två olika gränsvärden (uttryckt i procent positivitet (PP)) för positiva prover

	2008			2010			2012		
	Antal*	PP $\geq 10$	PP $\geq 30$	Antal	PP $\geq 10$	PP $\geq 30$	Antal	PP $\geq 10$	PP $\geq 30$
<b>BRSV</b>									
Skärgårdsöar	7	0	0	7	0	0	7	4	2
Huvudö	50	3	0	44	6	0	35	30	28
<b>BCV</b>									
Skärgårdsöar	7	1	0	7	1	0	7	2	2
Huvudö	50	12	11	44	15	12	35	22	19

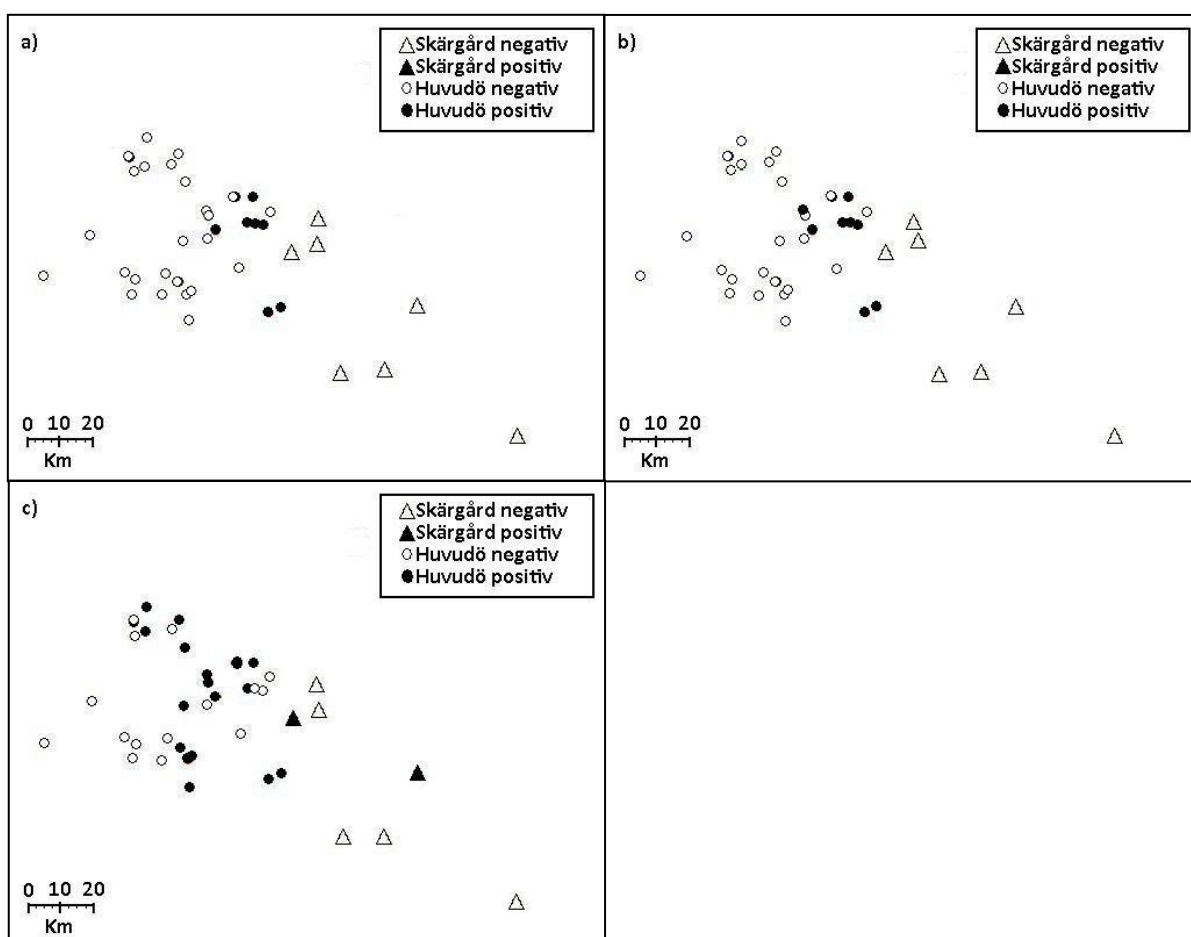
\*Antal provtagna besättningar på skärgårdsöar respektive huvudön

Den geografiska fördelningen av antikroppspositiva och antikroppsnegativa mjölkbesättningar avseende BRSV och BCV kan ses i figur 2 respektive figur 3 på nästa sida.

Figur 2. Geografisk fördelning baserad på serologisk status (positivt prov: procent positivitet (PP)  $\geq 30$ ) för bovin respiratoriskt syncytialt virus (BRSV) i 42 åländska besättningar belägna på huvudön eller skärgårdsöar a) 2008, 2010 och b) 2012.



Figur 3. Geografisk fördelning baserad på serologisk status (positivt prov: procent positivitet (PP)  $\geq 30$ ) för bovin coronavirus (BCV) i 42 åländska besättningar belägna på huvudön eller skärgårdsöar a) 2008, b) 2010 och c) 2012.



## Enkät svar

Av totalt 43 besättningar svarade 38 (88%), varav åtta utfördes via telefon. Enkät svaren är sammanställda i tabell 3.

Tabell 3. Enkät svar från 38 åländska besättningar uppdelade på antikroppsstatus i tankmjölk för bovint respiratoriskt syncytialt virus (BRSV) och bovint coronavirus (BCV) med gränsvärde för positiva prover för procent positivitet (PP)  $\geq 30$

Fråga	Svar	BRSV- positiv	BRSV- negativ	BCV- positiv	BCV- negativ	Total
Inköp av djur senaste 2 åren	Ja	10	3	8	5	13
	Nej	16	9	11	14	25
Om ja, varifrån	Åland	8	3	7	4	11
	Sverige	1	0	1	0	1
	Finska fastlandet	3	0	2	1	3
Anlitat personal från Sverige/finska fastlandet senaste 2 åren	Ja	22	9	16	15	31
	Nej	4	3	3	4	7
Kontakt med djur från andra besättningar	Ja	6	1	4	3	7
	Nej	20	11	15	16	31
Egen rock till besökare som alltid används	Ja	1	0	1	0	1
	Nej	25	12	18	19	37
Egna stövlar till besökare som alltid används	Ja	1	0	1	0	1
	Nej	25	12	18	19	37
Går transportör in bland djuren	Ja	15	9	12	12	24
	Ibland	7	2	4	5	9
	Nej	4	1	3	2	5
Smittskydd efter besök i andra åländska besättningar	Ja	24	9	17	16	33
	Nej	2	2	2	2	4
Om ja, vilka åtgärder	Klädbyte	21	9	16	14	30
	Skobyte	19	9	15	13	28
	Handtvätt	17	7	14	10	24
	Dusch	3	2	2	3	5
Väntar med kontakt 24 h efter besök i besättningar på fastlandet	Ja	0	2	1	1	2
	Ibland	3	2	3	2	5
	Nej	3	2	3	2	5
	Har ej kontakt	19	5	11	13	24

### Besättningskaraktäristika

Enligt enkätundersökningen har de åländska besättningarna i median 35 djur (interkvartil variationsbredd (IKV) 22-44). Av 38 besättningar använde sig 31 av extern seminpersonal och resterande sju inseminerar själva. Antal besökare en vanlig månad (veterinärer, seminörer och övriga besökare) var i median 5 (IKV 1-7).

### Symtom på BRSV och BCV

Åtta besättningar uppgav att de haft symtom på luftvägssjukdom under de senaste två åren som drabbat mer än 25% av besättningen och varat i en till två veckor. Besättning B uppgav att sinperioden närmade sig och kunde därför inte ange duration av mjölknedgång. Ingen besättning uppges ha uppmärksammat respiratoriska symtom under 2010 eller 2012. Tidpunkt och duration av utbrott, upplevd produktionsminskning och durationen av denna samt besättningens PP-värde för BRSV visas i tabell 4 och symtom och symtomgrad samt drabbade djurkategorier visas i tabell 5.

Tabell 4. Enkät svar från besättningar där luftvägssymtom uppmärksammats de senaste 2 åren och som drabbat mer än 25% av besättningen under en duration av 1-2 veckor

Besättning	PP*	År	Månad	Duration (veckor)	Mjölknedgång (%)	Duration nedgång (veckor)
A	97	2011	Maj	1	20	1
B	110	2011	Maj	1,5	40	-
C	93	2011	Aug	1	50	2
D	105	2011	Jun	1,5	30	4
E	6	2011	Maj	9	15	8
F	89	2011	Jun	1,5	10	1
G	95	2011	Jun	1,5	20	2
H	105	2011	Apr	2	15	2

\*Procent positiviteten i tankmjölk avseende BRSV

Tabell 5. Symtom och symtomgrad samt andel av djurkategorierna kalvar, ungdjur och kor som drabbats av symtom på bovin respiratoriskt syncytialt virus (BRSV)

Besättning	Symtom			Drabbade djurkategorier		
	Hosta	Inappetens	Feber	Kalvar	Ungdjur	Kor
A	Lindrig	Lindrig	Nej	75%	75%	75%
B	Måttlig	Kraftig	Kraftig	0%	50%	90%
C	Måttlig	Måttlig	Kraftig	25%	0%	50%
D	Kraftig	Måttlig	Måttlig	25%	0%	50%
E	Kraftig	Lindrig	Nej	25%	25%	25%
F	Lindrig	Lindrig	Måttlig	25%	0%	25%
G	Måttlig	Måttlig	Lindrig	50%	0%	50%
H	Måttlig	Måttlig	Måttlig	0%	0%	90%

Tolv besättningar uppgav att de haft symtom på diarre som drabbat mer än 25% av besättningen under en period av en till två veckor under de senaste 2 åren. Tidpunkt och duration av

utbrott, upplevd produktionsminskning och durationen av denna samt besättningens PP-värde för BCV visas i tabell 6. Besättning L hade när telefonintervjun gjordes (mitten av december 2012) ej kommit tillbaka till produktionsnivån innan utbrottet. Besättning L, N och O låg under gränsen för positivt prov ( $PP \geq 10$ ). I tabell 7 på nästa sida visas symtom och symtomgrad samt drabbade djurkategorier från de besättningar som uppgett att de haft symtom på BCV.

*Tabell 6. Enkät svar från besättningar där diarré uppmärksammats de senaste 2 åren och som drabbat mer än 25% av besättningen under en duration av 1-2 veckor*

Besättning	PP*	År	Månad	Duration (veckor)	Mjölknedgång (%)	Duration nedgång (veckor)
I	110	2012	Okt	4	10	2
J	123	2011	Okt	1	10	3
K	28	2011	Apr	1	20	2
L	0	2012	Nov	1	70	-
M	44	2012	Okt	0,5	50	1
N	0	2012	Nov	1	30	2
O	1	2012	Nov	0,5	40	1
A	45	2011	Maj	1	20	1
B	75	2011	Apr	1	10	-
C	96	2011	Aug	1	50	2
D	89	2011	Apr	1	20	2
H	85	2012	Nov	1,5	10	1,5

*\*Procent positivitet avseende BCV i tankmjölk*

Fyra av besättningarna (besättning A, B, C och D) som uppgett symtom på BRSV har även uppgett att de observerat symtom mot BCV samtidigt eller i nära anslutning till detta. Samtliga upplevde utbrott mellan april och augusti 2011. Två av de fyra besättningarna hade symtom på hosta och diarré samtidigt. I de besättningar som inte upplevde symtom samtidigt föregicks symtom på BRSV av symtom på BCV med 1-2 månader.

### **Smittskyddsrutiner**

I tabell 3 ses enkät svaren om användning av skyddskläder till besökare och rutiner efter besök i andra besättningar. På frågan om karantän används vid inköp av djur eller om djur varit i annan besättning svarar två av 34 att de använder sig av karantän, två använder sig av karantän ibland, 13 att de ej använder sig av karantän och 17 att de ej köper in djur. Fyra besättningar har inte svarat på frågan.

### **Kontakter med åländska besättningar**

Enligt enkätundersökningen var avståndet till närmaste gård med nötkreatur i median 1 km (IKV 0,1-3 km). De sju besättningar som haft djur som varit i kontakt med andra besättningar har haft kontakt genom sambete. Två av 38 svarande anger att de använder sig av kommersi-

ell kviguppfödning varav ingen av dessa består av djur från flera besättningar. För enkätsvar angående inköp av djur, se tabell 3.

Tabell 7. Symtom, symtomgrad samt andel av djurkategorierna kalvar, ungdjur och kor som drabbats av symtom på bovint coronavirus (BCV)

Besättning	Symtom					Drabbade djurkategorier		
	Diarré	Blod	Anorexi	Feber	Hosta	Kalvar	Ungdjur	Kor
K	Kraftig	Nej	Lindrig	Nej	Lindrig	0%	0%	25%
J	Måttlig	Nej	Lindrig	Nej	Nej	0%	0%	50%
C	Måttlig	Lindrigt	Måttlig	Kraftig	Måttlig	25%	0%	50%
D	Kraftig	Lindrigt	Måttlig	Lindrig	Nej	25%	0%	50%
A	Måttlig	Nej	Måttlig	Nej	Måttlig	25%	25%	75%
N	Måttlig	Nej	Lindrig	Nej	Nej	0%	0%	75%
B	Måttlig	Nej	Lindrig	Nej	Måttlig	0%	25%	75%
I	Kraftig	Nej	Lindrig	Nej	Nej	75%	90%	90%
L	Kraftig	Kraftigt	Kraftig	Nej	Nej	50%	75%	90%
M	Kraftig	Lindrigt	Lindrig	Lindrig	Lindrig	25%	25%	90%
O	Måttlig	Lindrigt	Måttlig	Nej	Måttlig	0%	0%	90%
H	Lindrig	Lindrigt	Måttlig	Nej	Nej	0%	-	75%

### Kontakter med Sverige och finska fastlandet

Majoriteten (31 av 38 svarande) uppger att de använt sig av personal från svenska eller finska fastlandet. Tjugonio av 31 besättningar uppger att de anlitat klövverkare, 7 att de använt sig av seminörer, 9 av servicetekniker och 20 att de använt sig av övrig personal där veterinärer och avelskonsulter är det vanligaste. Som ses i tabell 3 förekommer inköp av djur från både Sverige och finska fastlandet. Den som köpt in djur från Sverige har haft de inköpta djuren i karantän. Av de svarande uppger 67% att de ej har kontakt med besättningar i Sverige eller på finska fastlandet.

### Diskussion

Resultatet från den longitudinella prevalensstudien visar att BRSV introducerats till Åland mellan 2010 och 2012, då andelen besättningar med ett  $PP \geq 30$  gick från 0% till 71%. Ohlson *et al.* (in press) visade att ett PP-värde under 30 i tankmjölk är associerat med antikroppsnegativa förstakalvare. Antikroppar kvarstår under lång tid efter genomgången infektion (Bidokhti *et al.*, 2009; Hägglund *et al.*, 2006; Tråvén *et al.*, 2001). Baserat på det kan man vara säker på att BRSV inte förekommit på Åland sedan 2006 och sannolikt har de åländska besättningarna varit fria från infektion betydligt längre. Att områden kan vara helt fria från BRSV under en längre tid är ett mycket viktigt och intressant resultat som stödjer en tidigare studie där Jämtland visades vara fritt från BRSV under flera år (Ohlson *et al.*, in press).

Resultatet för BCV visade en högre prevalens 2008 och 2010 jämfört med BRSV, men även för BCV skedde en ökning 2012 både av andelen antikroppspositiva gårdar och av median-



halten antikroppar. Enligt veterinärer och djurägare på Åland är BCV-liknande utbrott känt sedan tidigare och sker med några års mellanrum (Lundberg, K., pers.medd., 2012). Då både BRSV och BCV varierar enligt molekylärepidemiologiska studier för utbrott vid olika tid och rum (Bidokhti *et al.*, 2012a, Bidokhti *et al.*, 2012b; Liu *et al.*, 2006) är det troligt att även BCV återkommande nyintroduceras till Åland. Hur introduktionen av BRSV och BCV har skett till Åland kan inte fastslås baserat på materialet i denna studie, men riskfaktorer för detta har identifierats.

Enkäterna visar att inköp av djur till Åland förekommer från både Sverige och finska fastlandet vilket innebär en hög risk för introduktion av smittsamma sjukdomar. Inköp från Sverige var dock ovanligt och är associerade med hälsoundersökningar samt karantänsrekommendation. Detta minskar risken för introduktion av BRSV och BCV även om det inte kan uteslutas. Inköp från finska fastlandet var däremot vanligare. Dessa är inte reglerade och enkäten visar att karantänsrutiner i samband med inköp är ovanligt. Enkätstudien visar också att besök av djurhälsopersonal från Sverige och finska fastlandet såsom klövverkare, seminörer och veterinärer är vanligt förekommande i åländska besättningar. Dessa yrkeskategorier har nära kontakt med djuren och besöker flera gårdar under samma dag. Indirekt smittspridning är en viktig smittväg för både BRSV och BCV (Hägglund *et al.*, 2006; Norström *et al.*, 2000b; Ohlson *et al.*, 2010b).

Resultatet av prevalensstudien visar på en stor spridning av BRSV och BCV bland åländska besättningar vid den sista provtagningen 2012. Tidigare studier har visat att dessa virus snabbt kan spridas i en region (Elvander, 1996; Norström *et al.*, 2000a). Detta kan ha skett via samma källa som introducerade virus till Åland, men har troligen främst skett via direkta och indirekta kontakter mellan åländska besättningar. Handel med djur mellan åländska besättningar var enligt enkätstudien vanligt. Majoriteten av besättningarna tillhandahåller inte gårdsegna stövlar och skyddskläder till besökare. Gårdsegna skyddskläder är en enkel och billig åtgärd som visat sig ha positivt samband med antikroppsnegativa gårdar (Ohlson *et al.*, 2010b). Majoriteten av besättningarna angav också att djurtransportörer går in i besättningen, en yrkeskategori som kan ha kontakt med många besättningar varje dag och riskerar därmed att föra smitta mellan besättningar. Majoriteten av de åländska lantbrukarna har dock bra smittskyddsrutiner då de besöker andra besättningar och ett flertal uppger att de helst undviker att göra besök i andra besättningar.

Antikroppsprevalensen har undersökts för BRSV och BCV i den svenska region som ligger närmast Åland med en prevalens på 100% för BRSV och 98% för BCV (PP $\geq$ 5) (Ohlson *et al.*, 2010b). Då Åland varit fri från BRSV under lång tid har sannolikt luftburen smitta inte förekommit mellan Åland och Sverige på ett avstånd av ca 40 km. Hur det ser ut med BRSV och BCV i de närliggande finska regionerna är ej beskrivet i några studier enligt författarens kännedom. Resultaten av provtagningen visar att det var högre andel antikroppspositiva besättningar på huvudön jämfört med skärgårdsöarna, både för BSRV och BCV. Detta beror troligtvis på att de har färre kontakter med andra besättningar, och vid indirekta kontakter såsom djurhälsopersonal besöks sannolikt färre besättningar per dag då avstånden är längre och färja måste tas. Skillnaden i prevalens visar också att BRSV och BCV inte sprids via luften några längre avstånd. Detta stödjer resultaten från en tidigare utförd studie som visade

att luftburen smittspridning inte är av stor betydelse för BRSV och BCV (Ohlson *et al.*, 2010b). Ytterligare ett intressant fynd var att vissa besättningar antikroppsnegativa för BCV låg i nära anslutning till nyinfekterade gårdar. Även detta stödjer resultat från Ohlson *et al.* (2010b) att lokala faktorer såsom vindburen smitta eller skadedjur inte har stor betydelse för smittspridningen av BCV.

Trots att många svagheter kunde identifieras i de åländska besättningarnas smittskyddsrutiner hittades inga signifikanta samband i univariabla analyser mellan antikroppsstatus och de undersökta riskfaktorerna från enkätstudien. Det kan delvis förklaras av att det är en liten population och därmed krävs stora skillnader i proportionerna för varje riskfaktor mellan grupperna med olika antikroppsstatus för att hitta signifikanta samband. Det finns sannolikt många indirekta smittvägar och det är svårt att fånga in alla potentiella risker och att mäta noggrannheten i åtgärderna vidtagna i besättningarna genom en enkätstudie. Avsaknad av statistisk signifikans innebär dock inte att de undersökta faktorerna inte innebär en risk för att få in smitta i besättningen. I enskilda fall kunde trolig smittväg identifieras, exempelvis framgick det att en av besättningarna som upplevt symtom för BCV hade köpt in djur i nära anslutning till utbrottet.

Smittskyddet i de åländska besättningarna kan i många avseenden förbättras och det är sannolikt en bidragande orsak till att BRSV efter introduktion fått en stor spridning samt den ökade antikroppsprevalensen för BCV. En förklaring till att det finns mycket utrymme för förbättringar vad det gäller smittskydd bland åländska besättningar är att de varit förskonade från många smittor. Den åländska mjölkproduktionen liksom den svenska och den på finska fastlandet genomgår strukturomvandlingar; besättningarna blir större och alltmer högproducerande. Ökande besättningsstorlek, omställning till ny teknik och allt mer högproducerande kor är faktorer som alla kan bidra till ökad stress och därmed känsligare djur. En infektion kan därför få större konsekvenser för djurhälsan och besättningens ekonomi än tidigare.

Relativt få av de besättningar som konverterade från antikroppsnegativa till antikroppspositiva mot BRSV angav i enkäten att de haft BRSV-relaterade symtom i besättningen. Detta kan bero på att djurägare missat symtomen som i så fall var milda och därmed inte angivit det i enkäten. Tidigare studier har visat att populationer naiva för BRSV kan drabbas i närmast epizootiska utbrott vid introduktion. Infektioners förlopp beror dock på en kombination av miljöfaktorer, endogena faktorer hos individen såsom immunstatus och kanske även genetiska faktorer, och smittämnets virulens. De eventuellt milda symtomen kan bero på att en mindre virulent stam av BRSV introducerats. Det visar att naiva populationer inte alltid får allvarliga utbrott av luftvägslidande vid introduktion av BRSV.

Några besättningar uppger att de drabbats av luftvägslidande och diarré under sommarhalvåret, en årstid som är atypisk för utbrott av BRSV och BCV även om det förekommer (Bidokhti *et al.*, 2012a; Bidokhti *et al.*, 2012b, Ohlson *et al.*, in press). Förklaringen kan vara att introduktionen av BRSV skett under sommarhalvåret och då samtliga av Ålands mjölkbesättningar varit mottagliga kan sjukdomsutbrotten blivit allvarligare än normalt under denna tidsperiod. Många besättningar var även naiva för BCV och därmed mottagliga även för denna infektion.

Epidemiologin hos BRSV och BCV är ännu ej fullständigt utredd och mer forskning behövs för att klargöra hur infektionerna smittar mellan besättningar. En molekylärepidemiologisk studie där BRSV- och BCV-isolat i åländska besättningar sekvenseras och jämförs med isolat från finska fastlandet och Sverige hade varit högst intressant. En sådan studie skulle kunna visa varifrån BRSV kommit och bidra till djupare förståelse för smittspridningen.

Resultaten i denna studie visar att BRSV introducerats till Åland efter att tidigare ha varit en naiv population. Det visar hur viktigt det är att minimera kontakterna mellan olika områden som kan ha olika status för smittsamma sjukdomar, och att vid kontakter vara noga med smittskyddsrutiner. Åland kan betraktas som en epidemiologisk enhet på grund av dess geografiska läge, och det är därför viktigt att alla besättningar blir uppmärksammade på riskerna i samband med kontakter utifrån. Även smittskyddet vid kontakter mellan besättningarna på Åland behöver uppmärksammas för att få säkrare rutiner. Profylaktiskt arbete i mjölkbesättningar blir med tiden viktigare för att undvika sjukdomar som i en alltmer högproduktiv mjölkproduktion riskerar att få stora konsekvenser.

## Tack till

Jag vill tacka mina handledare Stefan Alenius och Anna Ohlson. Tack för ert stora engagemang och stöd under skrivandet av mitt examensarbete. Och inte minst för era djupa kunskaper inom området.

Jag vill även tacka Kerstin Lundberg, husdjursrådgivare på Ålands Hushållningssällskap. Tack för att du ställt upp och delat med av data och lokalkännedom, svarat på mina många samtal och mail, och för hjälpen med logistiken kring enkäterna.

Tack även till Maj Hjort, SVA, som utfört antikroppsanalyserna på de insamlade proverna.

Slutligen ett stort tack till de åländska mjölkproducenter som deltagit i studien.

## Referenslista

- Arola, E., (2011). Framtiden för mjölkproduktion på Åland [online]. Tillgänglig: [https://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/39136/Arola\\_Emiliana.pdf?sequence=1](https://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/39136/Arola_Emiliana.pdf?sequence=1) [2012-010-25].
- Beaudeau, F., Björkman, C., Alenius, S., Frössling, J., (2010a). Spatial patterns of bovine corona virus and bovine respiratory syncytial virus in the Swedish beef cattle population. *Acta Vet. Scand.* 52, 33.
- Beaudeau, F., Ohlson, A., Emanuelson, U., (2010b). Associations between bovine coronavirus and bovine respiratory syncytial virus infections and animal performance in Swedish dairy herds. *J. Dairy Sci.* 93, 1523–1533.
- Bidokhti, M.R.M., Tråvén, M., Fall, N., Emanuelson, U., Alenius, S., (2009). Reduced likelihood of bovine coronavirus and bovine respiratory syncytial virus infection on organic compared to conventional dairy farms. *Vet. J.* 182, 436–440.
- Bidokhti, M.R.M., Tråvén, M., Ohlson, A., Baule, C., Hakhverdyan, M., Belák, S., Liu, L., Alenius, S., (2012a). Tracing the transmission of bovine coronavirus infections in cattle herds based on S gene diversity. *Vet. J.* 193, 386–390.

- Bidokhti, M.R.M., Tråvén, M., Ohlson, A., Zarnegar, B., Baule, C., Belák, S., Alenius, S., Liu, L., (2012b). Phylogenetic analysis of bovine respiratory syncytial viruses from recent outbreaks in feedlot and dairy cattle herds. *Arch. Virol.* 157, 601–607.
- Boileau, M.J., Kapil, S., (2010). Bovine coronavirus associated syndromes. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 123–146, table of contents.
- Brodersen, B.W., (2010). Bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 26, 323–333.
- Elvander, M., (1996). Severe respiratory disease in dairy cows caused by infection with bovine respiratory syncytial virus. *Vet. Rec.* 138, 101–105.
- Elvander, M., Edwards, S., Naslund, I., Linde, N., (1995). Evaluation and Application of an Indirect ELISA for the Detection of Antibodies to Bovine Respiratory Syncytial Virus in Milk, Bulk Milk, and Serum. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 7, 177–182.
- EVIRA – Livsmedelssäkerhetsverket EVIRA. Hemsida. [online] (2011-06-17). Tillgänglig: [www.evira.fi](http://www.evira.fi) [2013-01-30]
- FASS. (2012) [online]. Tillgänglig: [http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel\\_produktd\\_jsp?NplID=20030321000117&DocTypeID=4&UserTypeID=1](http://www.fass.se/LIF/produktfakta/artikel_produktd_jsp?NplID=20030321000117&DocTypeID=4&UserTypeID=1) [2012-11-12]
- Gulliksen, S.M., Jor, E., Lie, K.I., Løken, T., Akerstedt, J., Østerås, O., (2009). Respiratory infections in Norwegian dairy calves. *J. Dairy Sci.* 92, 5139–5146.
- Häggglund, S., Svensson, C., Emanuelson, U., Valarcher, J.F., Alenius, S., (2006). Dynamics of virus infections involved in the bovine respiratory disease complex in Swedish dairy herds. *The Veterinary Journal* 172, 320–328.
- Härtel, H., Nikunen, S., Neuvonen, E., Tanskanen, R., Kivelä, S.-L., Aho, R., Soveri, T., Saloniemi, H., (2004). Viral and bacterial pathogens in bovine respiratory disease in Finland. *Acta Vet. Scand.* 45, 193–200.
- Larsen, L.E., Graumann, A.M., (2010). Generelle data fra BRSV vaccinationsprojekt 2006-2009 [online]. Tillgänglig: <http://www.vet.dtu.dk/upload/institutter/vet/nyheder/generelle%20brsv%20rapport%20final.pdf> [2013-01-20]
- Larsen, L.E., (2000). Bovine respiratory syncytial virus (BRSV): a review. *Acta Vet. Scand.* 41, 1–24.
- Larsen, L.E., Tjørnehøj, K., Viuff, B., (2000). Extensive sequence divergence among bovine respiratory syncytial viruses isolated during recurrent outbreaks in closed herds. *J. Clin. Microbiol.* 38, 4222–4227.
- Liu, L., Häggglund, S., Hakhverdyan, M., Alenius, S., Larsen, L.E., Belák, S., (2006). Molecular Epidemiology of Bovine Coronavirus on the Basis of Comparative Analyses of the S Gene. *J Clin Microbiol* 44, 957–960.
- Lundberg, Kerstin, Ålands Hushållningssällskap, Åland. Mailkontakt 2012-12-11.
- Mars, M.H., Bruschke, C.J., Van Oirschot, J.T., (1999). Airborne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Vet. Microbiol.* 66, 197–207.
- Norström, M., Edge, V.L., Jarp, J., (2001). The effect of an outbreak of respiratory disease on herd-level milk production of Norwegian dairy farms. *Prev. Vet. Med.* 51, 259–268.
- Norström, M., Pfeiffer, D.U., Jarp, J., (2000a). A space–time cluster investigation of an outbreak of acute respiratory disease in Norwegian cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine* 47, 107–119.
- Norström, M., Skjerve, E., Jarp, J., (2000b). Risk factors for epidemic respiratory disease in Norwegian cattle herds. *Prev. Vet. Med.* 44, 87–96.

- Ohlson, A., Emanuelson, U., Tråvén, M., Alenius, S., (2010a). The relationship between antibody status to bovine corona virus and bovine respiratory syncytial virus and disease incidence, reproduction and herd characteristics in dairy herds. *Acta Vet. Scand.* 52, 37.
- Ohlson, A., Heuer, C., Lockhart, C., Tråvén, M., Emanuelson, U., Alenius, S., (2010b). Risk factors for seropositivity to bovine coronavirus and bovine respiratory syncytial virus in dairy herds. *Vet. Rec.* 167, 201–206.
- Ohlson, A., Alenius, S., Tråvén, M., Emanuelson, U., (in press). Dynamics of bovine coronavirus and bovine respiratory syncytial virus infections in dairy herds – a three year longitudinal study. *Vet J.*
- Otto, P., Elschner, M., Reinhold, P., Köhler, H., Streckert, H.J., Philippou, S., Werchau, H., Morgenroth, K., (1996). A model for respiratory syncytial virus (RSV) infection based on experimental aerosol exposure with bovine RSV in calves. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 19, 85–97.
- Paton, D.J., Christiansen, K.H., Alenius, S., Cranwell, M.P., Pritchard, G.C., Drew, T.W., (1998). Prevalence of antibodies to bovine virus diarrhoea virus and other viruses in bulk tank milk in England and Wales. *Vet. Rec.* 142, 385–391.
- Poel, W. van der, (1995) Epidemiology of bovine respiratory syncytial virus infections. Akad.avh. Utrecht: Utrecht Universitet. (ISBN: 90-393-0777-6).
- Saif, L.J., (2010). Bovine Respiratory Coronavirus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 26, 349–364.
- SVS – Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap (2011). Riktlinjer för användning av antibiotika till produktionsdjur – Nötkreatur och gris [online]. Tillgänglig: [www.svf.se](http://www.svf.se)[2012-11-20]
- Tråvén, M., Björnerot, L., Larsson, B., (1999). Nationwide survey of antibodies to bovine coronavirus in bulk milk from Swedish dairy herds. *Vet. Rec.* 144, 527–529.
- Tråvén, M., Näslund, K., Linde, N., Linde, B., Silvan, A., Fossum, C., Hedlund, K.O., Larsson, B., (2001). Experimental reproduction of winter dysentery in lactating cows using BCV—comparison with BCV infection in milk-fed calves. *Veterinary microbiology* 81, 127–151.
- Valarcher, J.-F., Taylor, G., (2007). Bovine respiratory syncytial virus infection. *Vet. Res.* 38, 153–180.
- West, K., Bogdan, J., Hamel, A., Nayar, G., Morley, P.S., Haines, D.M., Ellis, J.A., (1998). A comparison of diagnostic methods for the detection of bovine respiratory syncytial virus in experimental clinical specimens. *Can. J. Vet. Res.* 62, 245–250.
- ÅSUB – Ålands statistik- och utredningsbyrå. Hemsida. [online](2012-11-14) Tillgänglig: [www.asub.ax](http://www.asub.ax)[2013-01-30]